

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際調査機関）

REC'D 21 OCT 2004	
WIPO	PCT

出願人代理人  
園田 吉隆

様

あて名

〒 163-0243  
東京都新宿区西新宿 2 丁目 6 番 1 号  
新宿住友ビル 4 3 階  
園田・小林特許事務所

PCT  
国際調査機関の見解書  
(法施行規則第40条の2)  
[PCT規則43の2.1]

発送日  
(日.月.年)

19.10.2004

出願人又は代理人  
の書類記号 PC4998JST

今後の手続きについては、下記2を参照すること。

国際出願番号  
PCT/J P 2 0 0 4 / 0 1 2 5 1 6

国際出願日  
(日.月.年) 31.08.2004

優先日  
(日.月.年) 27.02.2004

国際特許分類 (IPC) Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/63, C12N1/15

出願人 (氏名又は名称)  
独立行政法人科学技術振興機構

1. この見解書は次の内容を含む。

- ☒ 第I欄 見解の基礎
- ☐ 第II欄 優先権
- ☐ 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
- ☐ 第IV欄 発明の単一性の欠如
- ☒ 第V欄 PCT規則43の2.1(a)(i)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- ☐ 第VI欄 ある種の引用文献
- ☐ 第VII欄 国際出願の不備
- ☐ 第VIII欄 国際出願に対する意見

2. 今後の手続き

国際予備審査の請求がされた場合は、出願人がこの国際調査機関とは異なる国際予備審査機関を選択し、かつ、その国際予備審査機関がPCT規則66.1の2(b)の規定に基づいて国際調査機関の見解書を国際予備審査機関の見解書とみなさない旨を国際事務局に通知していた場合を除いて、この見解書は国際予備審査機関の最初の見解書とみなされる。

この見解書が上記のように国際予備審査機関の見解書とみなされる場合、様式PCT/ISA/220を送付した日から3月又は優先日から22月のうちいずれか遅く満了する期限が経過するまでに、出願人は国際予備審査機関に、適当な場合は補正書とともに、答弁書を提出することができる。

さらなる選択肢は、様式PCT/ISA/220を参照すること。

3. さらなる詳細は、様式PCT/ISA/220の備考を参照すること。

見解書を作成した日

30.09.2004

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
佐久 敬

4 B 3 0 3 7

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

様式PCT/ISA/237 (表紙) (2004年1月)

## 第 I 欄 見解の基礎

1. この見解書は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎として作成された。

- ☐ この見解書は、                                 語による翻訳文を基礎として作成した。  
それは国際調査のために提出された PCT 規則 12.3 及び 23.1(b) にいう翻訳文の言語である。

2. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に不可欠なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき見解書を作成した。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

3. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

4. 補足意見：

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についてのPCT規則43の2.1(a)(i)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	8~10	有 無
	請求の範囲	1~7, 11, 12	
進歩性 (IS)	請求の範囲		有 無
	請求の範囲	1~12	
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1~12	有 無
	請求の範囲		

2. 文献及び説明

文献1 : WO 02/52026 A2 (UNIVERSITEIT LEIDEN) 2002.07.04  
文献2 : Mol. Gen. Genet. 1994 :242(4):490-494.  
文献3 : EMBO J., 1997; 16: p. 4788-4795  
文献4 : Genetics, 1996; 142: p. 383-391

請求の範囲 : 1~7, 1.1, 1.2

文献1の真核細胞において、例えばku70、lig4、ku80、XRCC4等の遺伝子に変異を導入するなどしてその機能を阻害すると、該細胞における非同相組換え機能が消失し、実質的に相同組換え機能のみが観察されること、及び相同組換えの率が高まった変異宿主細胞を用いてターゲティングによる遺伝子組換え方法が記載されている(例えば、第9頁第7行目から第10頁第3行目参照)。また、実施例においては*S. cerevisiae*のyku70或いはlig4遺伝子を破壊した株を調製し、実際に非同相組換えに比べて相同組換えの率が上昇したことが記載されている(例えば、Table 2参照)。

ここで、文献1記載のku70、lig4、ku80、XRCC4はいずれも本願発明でいう非同相組換えに必要な遺伝子に該当することを勘案すると、本願請求の範囲1~7、1.1、1.2に係る各発明は文献1に記載された発明であるから新規性を有しない。

請求の範囲 : 8~10

文献2には、*Neurospora crassa*について相同組換えを用いて所望の遺伝子を破壊する発明が記載されている。

文献2に記載されているように*N. crassa*等の細胞において遺伝子破壊操作を行なうことは周知の課題であるから、同じ真核生物である*S. cerevisiae*に関する文献1の技術を*N. crassa*に適用することは当業者であれば容易に想到し得ることである。

したがって、本願請求の範囲8~10に係る各発明は文献1及び2に記載された発明から当業者が容易になし得たものであるから進歩性を有しない。

## 補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

## 第 V 欄の続き

請求の範囲：11、12

文献3には、非相同組換えに必要な遺伝子であるrad52遺伝子を破壊した*S. cerevisiae*の株を調製し、その非相同組換えの率を測定した旨記載されている。

文献4には、非相同組換えに必要な遺伝子であるlig4遺伝子を破壊した*S. cerevisiae*の株を調製し、その非相同組換えの率を測定した旨記載されている。

したがって、本願請求の範囲11及び12に係る各発明は文献3或いは4それぞれに記載された発明であるから新規性を有しない。

# 特許協力条約

PCT

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

（法第12条、法施行規則第56条）

〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 PC4998JST	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP2004/012516	国際出願日 (日.月.年) 31.08.2004	優先日 (日.月.年) 27.02.2004
国際特許分類 (IPC) Int.Cl. C12N15/63(2006.01), C12N1/15(2006.01)		
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人科学技術振興機構		

<p>1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。 法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。</p> <p>2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。</p> <p>3. この報告には次の附属物件も添付されている。</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> 附属書類は全部で 2 ページである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙（PCT規則70.16及び実施細則第607号参照）</p> <p><input type="checkbox"/> 第1欄4.及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙</p> <p>b. <input type="checkbox"/> 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。 配列表に関する補充欄に示すように、電子形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含め。 (実施細則第802号参照)</p>	
<p>4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 第I欄 国際予備審査報告の基礎</p> <p><input type="checkbox"/> 第II欄 優先権</p> <p><input type="checkbox"/> 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成</p> <p><input type="checkbox"/> 第IV欄 発明の単一性の欠如</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明</p> <p><input type="checkbox"/> 第VI欄 ある種の引用文献</p> <p><input type="checkbox"/> 第VII欄 国際出願の不備</p> <p><input type="checkbox"/> 第VIII欄 国際出願に対する意見</p>	

国際予備審査の請求書を受理した日 26.12.2005	国際予備審査報告を作成した日 19.06.2006	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信	4B 9455 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2005年4月)

## 第1欄 報告の基礎

1. 言語に関し、この予備審査報告は以下のものを基礎とした。

- ☒ 出願時の言語による国際出願  
☐ 出願時の言語から次の目的のための言語である \_\_\_\_\_ 語に翻訳された、この国際出願の翻訳文  
☐ 国際調査 (PCT規則12.3(a)及び23.1(b))  
☐ 国際公開 (PCT規則12.4(a))  
☐ 国際予備審査 (PCT規則55.2(a)又は55.3(a))

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に回答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 \_\_\_\_\_ 1-28 \_\_\_\_\_ ページ、出願時に提出されたもの  
 第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
 第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 \_\_\_\_\_ 2-5, 10 \_\_\_\_\_ 項、出願時に提出されたもの  
 第 \_\_\_\_\_ 項\*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
 第 \_\_\_\_\_ 1, 9, 13-15 \_\_\_\_\_ 項\*、26, 12, 2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
 第 \_\_\_\_\_ 項\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第 \_\_\_\_\_ 1-4 \_\_\_\_\_ ページ/図、出願時に提出されたもの  
 第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
 第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☒ 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☒ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 6-8, 11, 12 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図  
☐ 配列表 (具体的に記載すること) \_\_\_\_\_  
☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) \_\_\_\_\_

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図  
☐ 配列表 (具体的に記載すること) \_\_\_\_\_  
☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) \_\_\_\_\_

\* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第Ⅴ欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1-5, 9, 10, 13-15	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-5, 9, 10, 13-15	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-5, 9, 10, 13-15	有
	請求の範囲		無

2 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1: PIERCE A. J. et al., Ku DNA end-binding protein modulates homologous repair of double-strand breaks in mammalian cells, *Genes Dev.*, 2001, Vol.15, No.24, pages 3237 to 3242

文献2: ALLEN C. et al., DNA-dependent protein kinase suppresses double-strand break-induced and spontaneous homologous recombination,

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2002, Vol.99, No.6, pages 3758 to 3763

文献3: ALLEN C. et al., Interactive competition between homologous recombination and non-homologous end joining, *Mol. Cancer Res.*, 2003, Vol.1, No.12, pages 913 to 920

文献4: WO 02/52026 A2 (UNIVERSITEIT LEIDEN) 2002.07.04

・請求の範囲1-5, 9, 10, 13-15

請求の範囲1乃至5, 9, 10, 並びに, 13乃至15に記載された発明は, 国際調査報告書には記載されなかった。新たに引用する上記文献1乃至3, 及び, 国際調査報告書に記載された文献4における記載から, 進歩性がない。

文献1では, KU70, XRCC4 等の本願において非相同組換えに必要な遺伝子とされているものを欠損させた哺乳動物細胞において, 相同組換えの亢進が確認されている。

文献2にも, 非相同組換えに必要な遺伝子とされているDNA-PKcs は, 相同組換えを抑制するものとして記載されている。

また, 文献2と同じ著者らによる文献であって, 文献1及び2をReferences の欄に記載もしている文献3にも, 哺乳動物細胞においてDNA-PKcs 等を特異的阻害剤で抑制すると, 相同組換えが亢進することが確認されることから, 非相同組換えと相同組換えの制御メカニズムに関する推論までまとめられている。

これらの文献における上記技術的事項に加え, 出芽酵母での非相同組換えに必要な遺伝子の相同組換えに及ぼす影響を検討した文献4における記載も付加的に考慮すれば, 出芽酵母が真核細胞の中でも特異のものであるという技術常識を踏まえたとしても, 他の真核細胞のうちの糸状菌について, 非相同組換えに必要な遺伝子の機能を抑えることで, 文献1乃至3に記載されるものと同様な結果(相同組換えの亢進)は, 当業者に十分予想されるもので, 格別の効果もない。

技術背景として, 本願発明とはもはや関係のない真核生物のうちで出芽酵母は特別だというだけにすぎない。

## 配列表に関する補充欄

## 第1欄2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。
- a. タイプ ☒ 配列表  
☐ 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット ☐ 紙形式  
☒ 電子形式
- c. 提出時期 ☒ 出願時の国際出願に含まれていたもの  
☐ この国際出願と共に電子形式により提出されたもの  
☐ 出願後に、調査又は審査のために、この国際機関に提出されたもの  
☐ \_\_\_\_\_ 付けで、この国際予備審査機関が補正\*として受理したもの
2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見：

\*第1欄4. に該当する場合、国際予備審査報告書の基礎となる配列表又は配列表に関連するテーブルに“superseded”と記入されることがある。



## 請求の範囲

[1]~~(補正)~~以下の(a)～(b);

(a) 非相同組換えに必要な遺伝子の機能低下もしくは機能喪失を誘導した糸状菌細胞を作製する段階、

(b) 前記細胞に外来性DNAを導入し相同組換えを行わせる段階、  
を含むことを特徴とする相同組換えを行わせる方法。

[2] 前記非相同組換えに必要な遺伝子の機能低下もしくは機能喪失が、細胞内に内在する非相同組換えに必要な遺伝子中に突然変異または欠失を導入することで達成されることを特徴とする請求項1に記載の方法。

[3] 前記非相同組換えに必要な遺伝子の機能低下もしくは機能喪失が、細胞内に内在する非相同組換えに必要な遺伝子の全体を破壊することで達成されることを特徴とする請求項1に記載の方法

[4] 前記外来性DNAを導入する段階が、電気ショック法、スフェロプラスト法またはTiプラスミド法のいずれかの方法によって達成されることを特徴とする請求項1乃至3のいずれか1項に記載の方法。

[5] 前記非相同組換えに必要な遺伝子が、少なくともKU70、KU80、LigIV、DNA-PKcs、またはXRCC4からなる群から選択される遺伝子であることを特徴とする請求項1乃至4のいずれか1項に記載の方法。

[6] (削除)

[7] (削除)

[8] (削除)

[9]~~(補正)~~ 前記糸状菌が、ニューロスボラ属、アスペルギルス属、ペニシリウム属、フザリウム属、トリコデルマ属またはムコール属のいずれか1つに属する糸状菌である請求項1乃至5のいずれか1項に記載の方法。

[10] 前記ニューロスボラ属に属する糸状菌が、少なくともニューロスボラ・クラッサ、ニューロスボラ・シトフィラ、ニューロスボラ・テトラスペルマ、ニューロスボラ・インターメディア、ニューロスボラ・ディスクレータからなる群から選択される1種である請求項9に記載の方法。

[11] (削除)

[12] (削除)

[13] ~~(追加)~~ 前記アスペルギルス属に属する糸状菌が、少なくともアスペルギルス・オリゼ、アスペルギルス・ソーヤ、アスペルギルス・ニガー、アスペルギルス・アワモリ、アスペルギルス・カリチ、アスペルギルス・パラシディク、アスペルギルス・フラバス、アスペルギルス・ノミウス、アスペルギルス・フミガタス、アスペルギルス・ニジェランスからなる群から選択される1種である請求項9に記載の方法。

[14] ~~(追加)~~ 前記段階(a)で作製された請求項1に記載の細胞。

[15] ~~(追加)~~ 請求項1乃至13のいずれか1項に記載の方法によって取得された細胞。